

Recibido: 30/1/15; Aceptado: 12/3/15

Se autoriza la reproducción total o parcial de este artículo, siempre y cuando se cite la fuente completa y su dirección electrónica.

<http://www.revistacentros.com>

indexada en



[http://www.latindex.unam.mx/buscador/ficPais.html?opcion=1&clave\\_pais=33](http://www.latindex.unam.mx/buscador/ficPais.html?opcion=1&clave_pais=33)



## Respuesta a estímulos ambientales en líneas de pez cebra seleccionados por su personalidad.

Reynaldo E. Vargas V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dr. en Acuicultura. E-mail: [rvargas661@gmail.com](mailto:rvargas661@gmail.com)

### Resumen

La variación en respuestas de comportamiento frente a estímulos ambientales es una de las variables mayormente estudiadas para evaluar flexibilidad de comportamiento. Las variaciones en flexibilidad de comportamiento tienen importantes implicaciones ecológicas y evolutivas para las especies. Nosotros probamos el efecto de la personalidad en la variación en respuestas a estímulos ambientales en líneas de pez cebra *Danio rerio*, seleccionados por su personalidad. Utilizando la prueba de toma de riesgo en grupos, separamos la población en diferentes personalidades (proactivo, intermedio y reactivo), después de un periodo de entrenamiento los extremos de esta variación en personalidad fueron evaluados frente a un estímulo ambiental. Encontramos diferencias entre los grupos en el periodo de entrenamiento para alcanzar el desempeño correcto de las tareas. No se encontró diferencias en el número de errores cometidos entre proactivos y reactivos cuando se confrontaron con un estímulo ambiental. Sin embargo los grupos mostraron diferencias en las latencias para alimentarse y el tiempo de permanencia en el refugio en esta prueba. Estos resultados muestran que la personalidad puede tener un efecto en las diferencias en flexibilidad mostrada por ambos grupos.

### Palabras Claves

Estímulo ambiental, personalidad, flexibilidad de comportamiento, *Danio rerio*

## **Abstract**

The variation in behaviour responses against environmental stimulus is one of the most studied variables; in order to evaluate behaviour flexibility. The variations in behaviour's flexibility have really important ecological and evolutionary consequences for the species. We tested the personality effect in variational responses to environmental stimulus in zebrafish lines (*Danio rerio*), selected for its personality. Using the "Taking Risk in Group Test", we separated the population according to the different kind of personalities, (proactive, intermediate and reactive), after a training period the extremes of this personality variation were evaluated facing an environmental stimulus. We found differences between the groups during the training period, in order to reach the correct achievement of tasks. No difference was found in the number of errors committed between proactive and reactivities while facing an environmental stimulus, but the groups shown differences in feed latency, and the time they could remain in the shelter in this test. Those results show that personality could take part of the effect that caused the flexibility differences shown by both groups.

## **Key Words**

Environmental stimulus, personality, behaviour flexibility, *Danio rerio*

## **Introducción**

Los individuos presentan variaciones en las respuestas de comportamiento para afrontar estímulos ambientales, en muchos casos estas variaciones en respuestas son consistentes a través del tiempo y en diferentes contextos o situaciones (Koolhaas *et al.*, 1999; Gosling, 2001; Sih *et al.*, 2004a; Reale *et al.*, 2007), en otros casos no existe tal consistencia, y los individuos son flexibles en sus patrones de respuestas (Briffa *et al.*, 2008; Stamps and Groothuis, 2010). Estos patrones de respuesta tienen importantes implicaciones ecológicas y evolutivas (Johansen *et al.*, 2012; Chapman *et al.*, 2010), que pueden ser ventajosas en algunos contextos y desventajosos en otros (Dall *et al.*, 2004; Frost *et al.*, 2007).

El termino flexibilidad de comportamiento se define como la habilidad de un individuo para responder directamente y ajustar su comportamiento a estímulos ambientales (Coppens *et al.*, 2010). La flexibilidad de comportamiento puede estar determinada por las experiencias previas en el ambiente de crianza (Sinn *et al.*, 2008), o en el momento en que el animal es desafiado (Briffa *et al.*, 2008). La flexibilidad refleja la influencia del estímulo ambiental en el comportamiento mostrado por un individuo (Stamps and Groothuis, 2010). La relación entre flexibilidad de comportamientos con otros rasgos de

la personalidad se ha estudiado en diferentes grupos taxonómicos como en moluscos (Wilson *et al.*, 2012), reptiles (Carter *et al.*, 2012), insectos (Kralj-Fišer and Schneider, 2012), aves (Dingemanse *et al.*, 2012), mamíferos (Martin and Réale, 2008) y peces (Chapman *et al.*, 2010, Ruiz-Gómez *et al.*, 2011; Heatwole and Fulton, 2013; Adriaenssens and Johnsson, 2013; Sørensen *et al.*, 2013).

Estos patrones de respuesta a estímulos ambientales también se han estudiado en animales modelos provenientes de programas de selección bidireccional o en individuos separados previamente por una prueba de comportamiento. En ratas y ratones machos, provenientes de un programa de selección bidireccional de comportamiento se sometieron a pequeñas variaciones interiores o exteriores del aparato de prueba que modificaban las condiciones ambientales aprendidas durante el proceso de entrenamiento y en ambos grupos los machos P prestaron poca atención al cambio y siguieron normalmente la rutina aprendida, por el contrario los R mostraron respuestas al estímulo ambiental tomando más tiempo en desempeñar las tareas aprendidas (Benus *et al.*, 1990).

En el caso de peces, líneas de trucha arco iris seleccionadas por bajo o altos niveles basales de cortisol (LR, HR respectivamente), se han reportado diferencias entre LR y HR en sus respuestas a estímulos ambientales y por lo tanto en el nivel de flexibilidad. Ruiz-Gómez *et al.*, (2011), reportaron diferencias en las latencias para alimentarse cuando los peces se confrontaron con un objeto nuevo o cuando la comida se colocó fuera de la zona de alimentación, la latencia de LR fue baja en presencia del objeto nuevo, pero alta cuando la comida se cambió de posición comparada con HR, por lo que la autora sugiere que LR es más propensa a desarrollar rutinas y por el contrario HR sus respuestas son condicionadas por el estímulo ambiental.

Nuestro laboratorio ha desarrollado un programa bidireccional de selección de líneas de pez cebra por sus personalidades frente a la toma de riesgo en grupos (Mackenzie *et al.*, 2009), el cual muestra patrones de comportamiento similares a los descritos para trucha arco iris seleccionada por sus niveles basales de cortisol. En un estudio anterior (ver

capítulo 3) nosotros demostramos que existe consistencia en los estilos de afrontamiento de ambas líneas probadas en diferentes contextos, sin embargo la fortaleza de la consistencia fue diferente, P mostró una consistencia mayor que R, lo que parece apuntar a que R presenta mayor flexibilidad en el comportamiento.

Con estos antecedentes nos planteamos como objetivo principal de este estudio investigar si P y R de *D. rerio*, difieren en sus respuestas a estímulos ambientales, para alcanzar este objetivo nos planteamos la siguiente hipótesis.

- ❖ Existen diferencias en la flexibilidad del comportamiento entre P y R frente a estímulos ambientales.

## Material y Métodos

### Especie

*Danio rerio*, es un pequeño ciprínido originario de los ríos de Pakistán, India y Bangladesh (Spence *et al.*, 2006). Las líneas azules y doradas que corren longitudinalmente en ambos lados del cuerpo y en las aletas anal y caudal se consideran la característica más importante de la especie y de donde se origina su nombre (Fang, 2000; Pritchard, 2001).

El pez cebra una de las especies modelo utilizadas en diferentes campos de la investigación incluyendo respuesta inmune (Pressley *et al.*, 2005; Sullivan and Kim, 2008), biología del desarrollo y genética (Grunwald and Eisen, 2002), drogas (Barros *et al.*, 2008), ), drogas terapéuticas (Rubinstein, 2003; Rubinstein, 2006), evolución (Cañestro *et al.*, 2007), toxicología y envenenamiento (Amanuma *et al.*, 2000; Liu *et al.*, 2006) y acuicultura (Ulloa *et al.*, 2011).

En el caso de estudios de comportamiento, varios aspectos se han investigado, entre ellas su comportamiento gregario (Engeszer *et al.*, 2007), agresión (Wright *et al.*, 2003; Larson *et al.*, 2006), dominancia y jerarquía (Dahlbom *et al.*, 2011; Filby *et al.*, 2010; Paull *et al.*, 2010), toma de riesgo (Dugatkin *et al.*, 2005), comportamiento reproductivo

(Spence *et al.*, 2007; Castranova *et al.*, 2011), aprendizaje (Bilotta *et al.*, 2005; Sison and Gerlai, 2010) comportamiento y morfología (Wright *et al.*, 2006), evolución del comportamiento (Moretz *et al.*, 2007a), comportamiento y reproducción (Ariyomo and Watt, 2012) y genética del comportamiento (Ariyomo *et al.*, 2013).

### **Manejo y estabulación**

Se emplearon un total de veinte individuos (N=20), diez de cada personalidad, con una relación hembra macho de 1,5:1. Los peces experimentales provenían de la primera generación del programa de selección bidireccional por personalidades con edades aproximadas de 7 meses. El experimento se desarrolló en la Facultad de Biociencias de la Universitat Autònoma de Barcelona.

Las condiciones de estabulación, manejo, alimentación, temperatura, concentración de oxígeno, fotoperiodo y control de los parámetros de calidad del agua son las mismas descritas para el manejo de esta especie.

### **Diseño experimental**

El experimento se diseñó para evaluar la respuesta a estímulos ambientales en pez cebra *Danio rerio* previamente seleccionados por su personalidad. Se adaptó de los experimentos realizados en mamíferos de granja (Bolhuis, *et al.*, 2004), roedores (Benus, *et al.*, 1987) y otras especies de peces (Frost *et al.*, 2007, Ruiz-Gómez *et al.*, 2011). Se seleccionaron peces adultos de ambos sexos mayores de 7 meses. Dos semanas antes de realizar el experimento los individuos se separaron por la prueba de toma de riesgos en grupos en tres categorías conductuales, proactivo (P), intermedio (I) y reactivo (R) (Mackenzie *et al.*, 2009).

Los peces I se descartaron en este experimento. Diez peces P y diez de R se estabularon en tanques de vidrio de 20 litros debidamente etiquetados con la categoría conductual correspondiente. Cada tanque se equipó previamente con grava en el fondo, calentadores y un sistema de aireación, igualando las condiciones a los tanques stock. Una semana antes de iniciar el experimento se determinó el sexo (Nüsslein-Volhard and Dahm, 2002; Spence *et al.*, 2006; von Krogh *et al.*, 2010), se pesaron, se registró la

longitud total y se determinó el factor de condición de Fulton (Carlander, 1950; Goetz *et al.*, 2010), de cada uno de los individuos experimentales. El experimento consistió en un periodo inicial de entrenamiento, donde los individuos de cada tipo de personalidad se entrenaron para alimentarse en un lado específico del tanque de prueba, suministrando dos comidas al día, consistente en tres larvas de gusanos rojos. Una vez los individuos alcanzaron el correcto desempeño de las tareas de aprendizaje se sometieron a una modificación ambiental introduciendo un objeto nuevo desconocido para ellos en la trayectoria de nado para alimentarse.

Durante la totalidad del desarrollo del experimento se evaluaron las siguientes variables: **latencia para alimentarse, tiempo en el refugio y número de errores cometidos para alimentarse.**

### **Toma de riesgo en grupos**

Los peces se separaron por sus personalidades, mediante la prueba de toma de riesgo en grupos. Toma de riesgo en grupos se midió como el tiempo tomado por un individuo para dejar un grupo en la seguridad de un refugio. Representa la disposición de explorar un ambiente nuevo y potencialmente peligroso (Huntingford and Coyle, 2007). El tanque de prueba consistió en un tanque de 20 litros (40x20x25cm), el lado opuesto y los lados laterales al observador se cubrieron con papel blanco, así como también el lado de observación se cubrió en 3/4 partes para reducir el estrés y aislar del medio externo. Se dividió 1/3 de su longitud, con un separador negro de PVC habilitado con un agujero, formando un área de refugio en uno de los extremos.

Un grupo de nueve peces se transfirieron del tanque de habituación y se colocaron en el área de refugio del tanque de prueba, dejando los animales 10 minutos para reducir el estrés de manipulación. Finalizados los 10 minutos el separador que cubría el agujero se retiró suavemente, permitiendo a cada pez elegir entre permanecer en el refugio o salir y entrar en el nuevo ambiente, iniciando la primera fase de observación de 10 minutos. Los tres primeros peces que entraron al nuevo ambiente, o los peces con latencias inferiores a 10 minutos se seleccionaron como P registrando la latencia total de cada individuo.

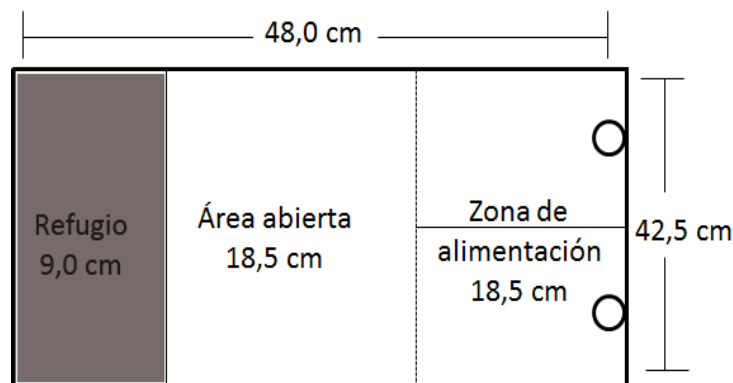
El agujero de salida se cubrió con la lámina y los peces que emergieron se trasladaron a un tanque con las mismas condiciones que los tanques de stock, debidamente rotulado (P), registrando el tiempo real. El separador se retiró nuevamente iniciando un segundo periodo de observación de 15 minutos. Los tres primeros peces que entraron al nuevo ambiente o si menos de tres peces entraron en 15 minutos se seleccionaron como I, registrando la latencia total de salida de cada individuo. Nuevamente se cerró el agujero de salida del separador y se colocaron los individuos en un tanque previamente rotulado (I), posteriormente fueron descartados. Los restantes tres peces o todos los peces que aun permanecieron en el refugio después de la segunda fase de 15 minutos se clasificaron como R y se colocaron en un tanque previamente rotulado (R).

### **Registro de variables morfométricas**

Diez individuos P y diez R (6 hembras y 4 machos) se pesaron, se registró su longitud total y se determinó el factor de condición de Fulton para cada uno de ellos. Se estabularon de acuerdo a la personalidad en grupos de ambos sexos, en tanque de vidrio de 20 litros. Se sometieron a un periodo de habituación de una semana para sustituir el pienso seco y húmedo por larvas descongeladas de gusanos rojos (*Chironomid*, Ocean Nutrition®, Esse, Belgium). La temperatura, la concentración de oxígeno y el fotoperiodo se mantuvieron con valores similares a los de los tanques stock.

### **Aparato**

El tanque de prueba consistió en un tanque de plástico gris de 40 litros (ver Figura 1). Internamente se dividió en dos secciones. La primera sección se estableció en uno de los extremos del tanque, aproximadamente en  $\frac{1}{4}$  de su longitud, colocando un separador negro de PVC y un cristal, formando un área de refugio, esta permaneció cubierta durante la totalidad de la prueba. El extremo de la segunda sección del tanque (ambiente nuevo), se dividió en dos secciones, un área abierta y una zona de alimentación establecida en el extremo opuesto al refugio. La zona de alimentación se dividió en una zona derecha y otra izquierda con un separador negro de PVC de 18,5 cm de largo insertado herméticamente al tanque de prueba. Cada una de las zonas de alimentación se equipó con una placa de Petri de 55 milímetros utilizada para colocar el alimento.



**Figura 1.** Diagrama del tanque experimental empleado mostrando el área de refugio y las dos subdivisiones del ambiente nuevo formadas por el área abierta y la zona de alimentación. La línea entrecortada marca el inicio de la zona de alimentación, cada zona de alimentación estaba equipada con una placa de Petri.

### **Latencia para reasumir la alimentación después de una situación estresante**

La primera parte del experimento se diseñó para medir la respuesta de los individuos a un ambiente nuevo “novel environment test”. Cada pez se evaluó individualmente. Las secuencias de observaciones se realizaron siguiendo una serie alterna en base a la personalidad, iniciando con P seguido de R hasta culminar la totalidad de la prueba. Cada pez se transfirió individualmente del tanque de habituación a la zona de refugio del tanque de prueba. El periodo de habituación se estableció en 10 minutos, periodo que le permitió al pez reducir el estrés de la manipulación. Finalizado los primeros 5 minutos del periodo de habituación el separador negro de PVC se retiró permitiéndole al pez tener contacto visual con el área abierta del tanque. Transcurrido 8 minutos del periodo de habituación, tres gusanos rojos (*Chironomid*) se liberaron con la ayuda de una pipeta Pasteur en la columna de agua de la zona de alimentación asignada, permitiéndole al pez establecer contacto visual con el alimento. Al finalizar el periodo de habituación el separador de cristal se elevó desde atrás a través de un sistema de poleas, iniciando el periodo de prueba de 5 minutos. Nosotros evaluamos la latencia para reasumir el comportamiento de alimentación después de una situación estresante, tiempo de



permanencia en el refugio y el número de errores cometidos. La latencia para reasumir la alimentación se definió como el tiempo que el pez tarda en capturar el primer gusano. Tiempo de permanencia en el refugio se definió como el tiempo que el individuo permanece bajo el área cubierta de uno de los extremos del tanque que funciona como refugio durante el periodo de habituación. Un error se definió como el número de veces que el individuo sobrepasa en una longitud de su cuerpo una línea imaginaria trazada al inicio de la zona de alimentación incorrecta. Finalizada la prueba la totalidad del agua del tanque se cambió entre cada prueba, evitando señales químicas que interfieran con el comportamiento del siguiente individuo.

### **Periodo de entrenamiento**

Todos los peces se alimentaron dos veces al día siguiendo el orden de la primera alimentación. A partir de la segunda alimentación (primer día en la tarde), hasta el final del experimento, el alimento se suministró en la placa de Petri, colocado previamente al momento de transferir el pez al refugio. Sin embargo los peces podían mantener contacto visual con el alimento dentro de la placa Petri al momento que el separador negro es retirado durante el periodo de habituación. Los criterios empleados para definir si los individuos han realizado correctamente el proceso de aprendizaje se estableció de la siguiente manera, que atrapen el primer gusano antes de 10 segundos, y no cometan ningún error para encontrarlo.

### **Objeto nuevo (respuesta a estímulos ambientales)**

Finalizado el proceso de aprendizaje los peces se sometieron a una modificación ambiental consistente en la inserción de un objeto nuevo en la trayectoria seguida por los individuos para alimentarse. El objeto nuevo consistió de una figura de Lego® de color rojo (6 x 3 x 2,5 mm, largo, ancho, altura, milímetros,), el cual se suspendió en la mitad de la columna de agua, 5 centímetros detrás de la línea imaginaria trazada al inicio de la zona de alimentación.

La prueba solo se evaluó durante la alimentación de la mañana. El procedimiento seguido es similar al descrito en el periodo de entrenamiento. Las variables evaluadas son las mismas registradas durante el proceso de entrenamiento. Terminada la sesión el objeto nuevo se retiró y la totalidad del agua se cambió.

## Análisis estadístico

Las variables evaluadas durante toda la fase experimental se examinaron por la prueba de Levene de homogeneidad de varianzas para verificar si mostraban una distribución normal. Aquellas variables no normales se normalizaron empleando el logaritmo 10 ( $\log_{10}(x+1)$ ). Las variables con distribución normal se analizaron empleando la prueba de t de Student, aquellas variables que permanecieron con una distribución no normal después de la transformación logarítmica se evaluaron empleando las pruebas no paramétricas de Mann-Whitney.

## Resultados

### Registro de variables morfométricas

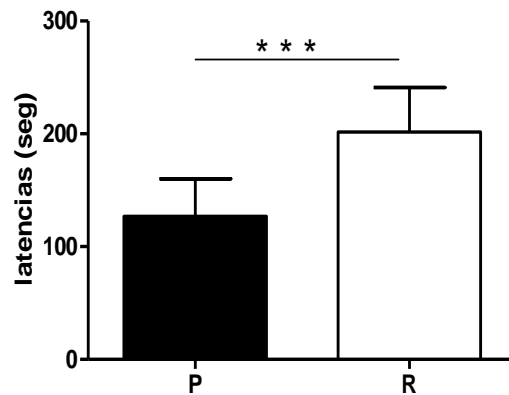
La Tabla 1 con los resultados de la prueba t muestra que los animales P y R seleccionados para realizar el experimento no mostraron diferencias significativas en el peso, longitud total y en el factor de condición de Fulton

**Tabla 1.** Media ( $\pm$  DE) y resultados de la prueba t de peso (g), longitud total (LT) y factor de condición de Fulton (K), en peces cebrá P y R, evaluados por la prueba de toma de riesgo en grupos (asterisco indica diferencias significativas entre P y R. \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ).

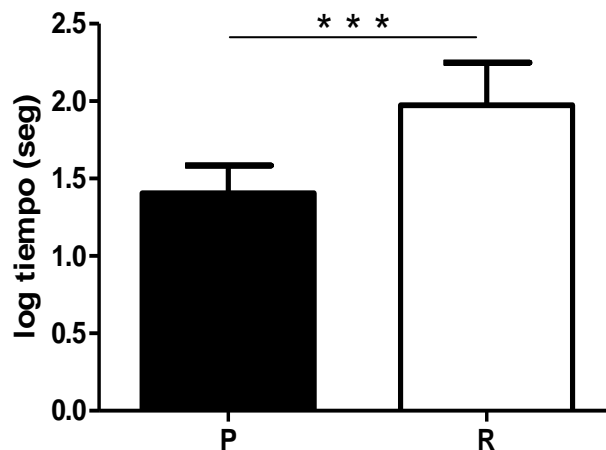
P (n=10)		R (n=10)		
Variable	Media $\pm$ DE	Media $\pm$ DE	t	p
Peso	0,798 $\pm$ 0,11	0,825 $\pm$ 0,12	-0,522	0,607
LT	42,03 $\pm$ 0,97	42,47 $\pm$ 1,12	-0,947	0,356
K	1,07 $\pm$ 0,12	1,07 $\pm$ 0,11	-0,007	0,993

### Latencias para reasumir la alimentación después de una situación estresante

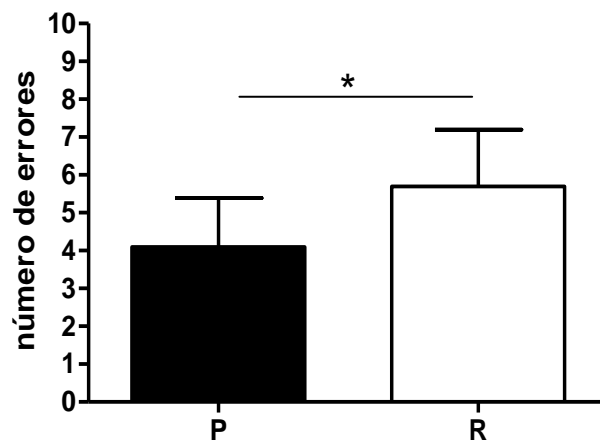
Los resultados muestran que los peces P, reasumieron la alimentación mas rápido, ( $t = -4,56$ ,  $p = 0,0002$ ,  $DF = 18$ ), pasaron menos tiempo en el refugio cuando son confrontados con una nueva situación ( $t = -5,47$ ,  $p = 0,00003$ ,  $DF = 18$ ) y cometieron menos errores para encontrar la comida ( $t = -2,56$ ,  $p = 0,019$ ,  $DF = 18$ ) que los peces R (ver Figuras 2; 3; 4 respectivamente).



**Figura 2.** Media ( $\pm$  DE) de la latencia en segundos que los individuos P y R tomaron para realimentarse, cuando son confrontados con un ambiente nuevo. \*\*\* $p < 0,001$ .



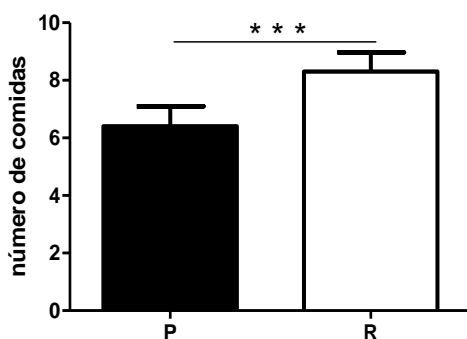
**Figura 3.** Media ( $\pm$  DE) del logaritmo de tiempo en segundos que los individuos P y R permanecieron en el refugio, cuando son confrontados con un ambiente nuevo. \*\*\* $p < 0,001$ .



**Figura 4.** Media ( $\pm$  DE) del número de errores que los individuos P y R cometieron, cuando son confrontados con un ambiente nuevo. \* $p < 0,05$ .

#### Periodo de entrenamiento

La Figura 5 muestra que los peces P tomaron menos tiempo que los peces R en desempeñar correctamente los criterios establecidos para realizar las tareas durante el periodo de aprendizaje ( $t = -6,18$ ,  $p < 0,0001$ ,  $DF = 18$ ). En la Tabla 2 se muestran los resultados de las latencias para realimentarse, tiempo en el refugio y errores cometidos, durante el periodo de entrenamiento.



**Figura 5.** Media ( $\pm$  DE) del número de comidas que los individuos P y R necesitaron para el correcto desempeño de las tareas durante el periodo de entrenamiento, \*\*\* $p < 0,001$

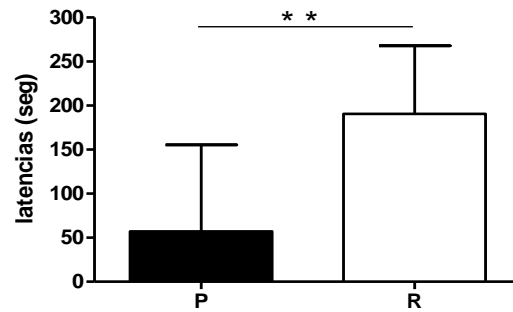
**Tabla 2.** Media ( $\pm$  DE) y resultados de Mann-Whitney de latencia para alimentarse, tiempo en el refugio y número de errores cometidos, por individuos P y R sometidos a un periodo de entrenamiento.

Comidas	Conducta	Latencia para Alimentarse		Tiempo en el Refugio		Errores	
		Media ( $\pm$ DE)	p	Media ( $\pm$ DE)	P	Media ( $\pm$ DE)	p
1	P	126,9 $\pm$ 33,1	p=0,0008	26,4 $\pm$ 11,1	P=0,0006	4,1 $\pm$ 1,3	p=0,02
	R	201,5 $\pm$ 39,6		108,6 $\pm$ 57,5		5,7 $\pm$ 1,5	
2	P	119,0 $\pm$ 23,4	p=0,0001	20,6 $\pm$ 6,8	P=0,0001	3,8 $\pm$ 1,1	p=0,005
	R	204,6 $\pm$ 34,9		123,0 $\pm$ 23,7		5,0 $\pm$ 0,7	
3	P	79,8 $\pm$ 8,9	p=0,0001	20,4 $\pm$ 6,4	P=0,0001	1,6 $\pm$ 0,5	p=0,000
	R	187,6 $\pm$ 44,2		139,0 $\pm$ 27,4		4,8 $\pm$ 0,6	
4	P	85,1 $\pm$ 21,1	p=0,037	27,7 $\pm$ 12,9	P=0,0001	2,1 $\pm$ 1,1	p=0,57
	R	105,8 $\pm$ 19,0		83,2 $\pm$ 24,0		2,0 $\pm$ 0,7	
5	P	20,6 $\pm$ 4,0	p=0,0001	9,4 $\pm$ 3,1	P=0,0001	1,6 $\pm$ 0,5	p=0,002
	R	120,5 $\pm$ 31,2		90,8 $\pm$ 37,3		3,3 $\pm$ 1,2	
6	P	8,1 $\pm$ 1,7	p=0,0001	0	P=0,0001	0,2 $\pm$ 0,4	p=0,0007
	R	95,2 $\pm$ 25,8		41,4 $\pm$ 12,1		1,9 $\pm$ 1,1	
7	P	8,3 $\pm$ 2,5	p=0,0001	0	P<0,0000	0,1 $\pm$ 0,3	p=0,01
	R	21,3 $\pm$ 4,0		10,2 $\pm$ 3,0		1,1 $\pm$ 1	
8	P	7,0 $\pm$ 1,3	p=0,876	0	-----	0	p=0,32
	R	7,6 $\pm$ 2,6		0		0,1 $\pm$ 0,3	
9	P	6,5 $\pm$ 1,2	p=0,328	0	-----	0	p=0,32
	R	6,1 $\pm$ 1,2		0		0,1 $\pm$ 0,3	
10	P	5,8 $\pm$ 1,0	p=0,968	0	-----	0	-----
	R	5,9 $\pm$ 0,9		0		0	

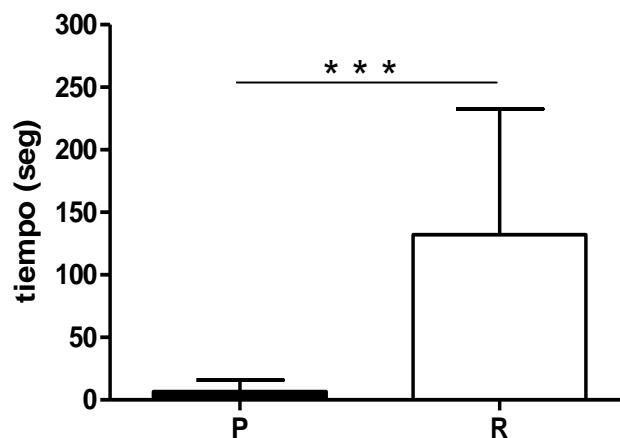
### Objeto nuevo

La Figura 6 muestra que los peces R tomaron mas tiempo en alimentarse que los peces P cuando un objeto nuevo se adicionó en la trayectoria seguida por los individuos para alcanzar la zona de alimentación correcta ( $t=-3,37$ ,  $p= 0,003$ ,  $DF=18$ ). Esta respuesta se debe principalmente a que los peces R permanecieron mucho más tiempo en el refugio que los peces P (Mann-Whitney  $U= 0,000$   $p= 0,0001$ , ver Figura 7).

Sin embargo no existieron diferencias significativas en el número de errores cometidos entre los peces de ambas conductas ( $t=-1,88$ ,  $p= 0,075$ ,  $DF=18$ ).



**Figura 6.** Media ( $\pm$  DE) de la latencias en segundos para encontrar la comida en individuos P y R, confrontados con un objeto nuevo insertado en la trayectoria de alimentación.  $**p<0,01$ .



**Figura 7.** Media ( $\pm$  DE) del tiempo en segundos que los individuos P y R permanecieron en el refugio cuando se confrontaron con un objeto nuevo insertado en la trayectoria de alimentación.  $***p<0,001$ .

## Discusión

Nuestro estudio muestra que los peces P y R reaccionan con patrones opuestos de respuesta y muestran diferencias en flexibilidad frente a estímulos ambientales similares a los reportados para roedores (Koolhaas *et al.*, 1999; Korte *et al.*, 2005), animales de granja (Bolhuis *et al.*, 2004) y otras especies de peces (Ruiz-Gómez *et al.*, 2011).

Los peces P reasumieron la alimentación más rápido cuando son confrontados con una nueva situación. Resultados similares se reportaron en líneas de trucha arco iris, donde los peces LR reasumen más rápido la alimentación después de una situación estresante (Øverli *et al.*, 2005). Una premisa básica para estas evaluaciones es brindar al individuo la oportunidad de poder reaccionar con patrones alternativos de respuestas (Treit, 1989; Veenema *et al.*, 2005). En nuestro diseño actual nosotros le otorgamos la oportunidad de elegir entre salir a alimentarse o permanecer en la seguridad que le brinda el refugio, los peces P reasumieron la alimentación más rápido, permanecieron menos tiempo en el refugio y cometieron menos errores cuando se expusieron a una nueva situación. En este estudio las latencias para reasumir la alimentación no estuvo condicionada por diferencias en peso, longitud o factor de condición de Fulton que puedan sugerir diferencias en tasas metabólicas en reposo (Biro and Stamp, 2008, 2010; Martins *et al.*, 2011).

Posiblemente las diferencias mostradas entre ambas líneas en las latencias para realimentarse después de una situación estresante, estén asociadas a la percepción de la nueva situación (Tong, 2010). Los peces R mostraron síntomas de mayor estrés, con patrones de comportamientos como neofobia, reducida exploración y miedo, característicos de una alta activación del eje HPI (Budaev, 1997; Budaev and Zhuikov, 1998; Koolhaas *et al.*, 1999; Brown and Braithwaite, 2005; Thomas *et al.*, 2010; Meager *et al.*, 2012).

## **Periodo de entrenamiento**

De forma general los peces P alcanzaron el correcto desempeño de las tareas más rápido que los peces R durante el periodo de entrenamiento. Los peces P mostraron una reducción paulatina entre cada comida en la latencia para alimentarse, el tiempo en el refugio y el número de errores cometidos; por el contrario los peces R mostraron reducciones seguidas muchas veces de incrementos de las latencias para alimentarse, principalmente debido a una mayor permanencia en la zona de refugio.

Esto pareciera indicar que existen diferencias cognitivas temporales en la forma de desempeñar el aprendizaje entre P y R; en la literatura se ha establecido asociaciones entre el nivel cognitivo, neuroendocrino y de comportamiento en líneas de trucha arco iris (Moreira *et al.*, 2004), también en *Poecilia reticulata* se encontró una relación positiva entre machos previamente seleccionados como atrevidos y el desempeño de una tarea asociativa de aprendizaje (Dugatkin and Alfieri, 2003). Sin embargo nosotros no podemos hablar de diferencias en el aprendizaje, ya que en nuestro estudio todos los peces fueron capaces de desempeñar correctamente las tareas durante el periodo de entrenamiento.

## **Objeto nuevo**

El correcto desempeño de las tareas aprendidas durante la fase de entrenamiento se alteró dramáticamente en los peces R cuando se confrontaron con un estímulo ambiental en este caso un objeto nuevo colocado en la ruta seguida por los individuos para alimentarse, en tanto los peces P, mostraron menos signos de ser afectados por el estímulo ambiental.

En el estudio actual la mayor latencia para alimentarse en los peces R está influenciada por un mayor tiempo de permanencia en el área refugio lo que probablemente muestra que los individuos tenían la capacidad de evaluar la nueva situación como potencialmente peligrosa para ellos, sugiriéndonos que las respuestas de comportamiento de R estuvieron relacionadas a la exposición al estímulo ambiental. Además nosotros apoyamos nuestra sugerencia en el hecho de que no existieron



diferencias en el número de errores cometidos entre P y R, señalando que los peces R tenían contacto visual con el objeto nuevo desde la seguridad que les brindaba el refugio antes de tomar el riesgo de ir a alimentarse, esto se reportó en la literatura en donde algunos autores sugieren que las respuestas en comportamiento puede ser expresada por la magnitud con que cada individuo percibe y reacciona al estímulo ambiental (Dadda *et al.*, 2007; Wolf *et al.*, 2008; Tong, 2010).

Resultados similares mostrada por nuestras líneas conductuales se han reportado en otras especies de peces, en trucha arco iris de dos líneas (HR y LR), después de tener desempeños similares en el periodo de entrenamiento, HR tomaron más tiempo en alimentarse que LR cuando se confrontaron con un objeto nuevo (Ruiz-Gómez *et al.*, 2011). En mamíferos de laboratorio también se han encontrado resultados similares, en ratones domésticos (*Mus musculus*) individuos seleccionados por una corta latencia de ataque (SAL), con patrones de comportamiento similares a P, no mostraron respuestas a estímulos ambientales colocado dentro del tanque de prueba. Contrariamente ratones de larga latencia de ataque (LAL), mostraron cambios en los patrones de comportamiento similares a los mostrados por los peces R en el estudio actual (Benus *et al.*, 1991).

En conclusión nosotros mostramos diferencias en como individuos *D rerio* seleccionados por sus personalidad en nuestro programa de selección bidireccional responden a estímulos ambientales y su predisposición a desarrollar flexibilidad de comportamiento. Los peces P mostraron patrones de comportamientos más repetitivos una vez aprendida una tarea, similares a los descritos en otras especies (Koolhaas, *et al.*, 1999; Sih *et al.*, 2004, Ruiz-Gómez *et al.*, 2011), sugiriendo que en esta línea las experiencias previas adquiridas determinan el estilo de afrontamiento adoptado posteriormente frente a un desafío. Por el contrario los peces R mostraron respuestas de comportamiento asociadas al estímulo ambiental presente, ajustando sus comportamientos de acuerdo a la situación sugiriendo una mayor predisposición a mostrar flexibilidad de comportamientos (Benus *et al.*, 1991; Koolhaas *et al.*, 1999, Koolhaas *et al.*, 2010).

## **Bibliografía.**

**Adriaenssens B, Johnsson J.** 2013. Natural selection, plasticity and the emergence of a behavioural syndrome in the wild. *Ecology Letters*, 16: 47-55.

**Amanuma K, Takeda H, Amanuma H, Aoki Y.** 2000. Transgenic zebrafish for detecting mutations caused by compounds in aquatic environments. *Nature Biotechnology*, 18: 62-65.

**Ariyomo T, Carter M, Watt P.** 2013. Heritability of boldness and aggressiveness in the zebrafish. *Behavior Genetics*, 43: 161-167.

**Ariyomo T, Watt P.** 2012. The effect of variation in boldness and aggressiveness on the reproductive success of zebrafish. *Animal Behaviour*, 83: 41-46.

**Barros T, Alderton W, Reynolds H, Roach A, Berghmans S.** 2008. Zebrafish: an emerging technology for in vivo pharmacological assessment to identify potential safety liabilities in early drug discovery. *British Journal of Pharmacology*, 154:1400–1413.

**Benus R, Bohus B, Koolhaas J, Vanoortmerssen G.** 1991. Heritable variation for aggression as a reflection of individual coping strategies. *Experientia*, 47:1008-1019.

**Benus R, Koolhaas J, van Oortmerssen G.** 1987. Individual-differences in behavioral reaction to a changing environment in mice and rats. *Behaviour*, 100:105-122.

**Benus R, Koolhaas J, van Oortmerssen G.** 1990. Routine formation and flexibility in social and nonsocial behavior of aggressive and nonaggressive male-mice. *Behaviour*, 112:176-193.

**Bilotta J, Risner M, Davis E, Haggbloom S.** 2005. Assessing appetitive choice discrimination learning in zebrafish. *Zebrafish*, 2: 259-268.

**Biro P, Stamps J.** 2008. Are animal personality traits linked to life-history productivity? *Trends in Ecology Evolution*, 23: 361-368.

**Biro P, Stamps J.** 2010. Do consistent individual differences in metabolic rate promote consistent individual differences in behavior?. *Trends in Ecology and Evolution*, 25:653-659.

**Bolhuis J, Schouten W, de Leeuw J, Schrama J, Wiegant V.** 2004. Individual coping characteristics, rearing conditions and behavioural flexibility in pigs. *Behav. Brain Res*, 152:351-360.

- Briffa M, Rundle S, Fryer A.** 2008. Comparing the strength of behavioural plasticity and consistency across situations: animal personalities in the hermit crab *Pagurus bernhardus*. *Proceedings of the Royal Society B*, 275: 1305-1311.
- Brown C, Braithwaite VA.** 2005. In situ examination of boldness-shyness traits in the tropical poeciliid, *Brachyrhaphis episcopus*. *Anim Behav*, 70: 1003-1009.
- Budaev S, Zworykin D.** 2002. Individuality in fish behavior. *Ecology and comparative psychology. Journal of Ichthyology*, 42:189-195.
- Budaev S.** 1997. Personality in the guppy (*Poecilia reticulata*): a correlational study of exploratory behavior and social tendency. *J. Comp. Psychol*, 111:399-411.
- Cañestro C, Yokoi H, Postlethwait J.** 2007. Evolutionary developmental biology and genomics. *Nature Reviews Genetics*, 8: 932–942.
- Carlander K.** 1950. *Handbook of freshwater Fishery Biology*, WM. C Brown Company, Dubuque, Iowa.
- Carter A, Goldizen A, Heinsohn R.** 2012. Personality and plasticity: temporal behavioural reaction norms in a lizard, the Namibian rock agama. *Animal Behaviour*, 84: 471-477.
- Castranova D, Lawton A, Lawrence C, Baumann D, Best J, Cascolla J, Doherty A, Ramos J, Hakkesteege J, Chongmin W, Wilson C, Malley J, Weinstein B.** 2011. The effect of stocking densities on reproductive performance in laboratory zebrafish (*Danio rerio*). *Zebrafish*, 8: 141-146.
- Chapman B, Morrell I, Tosh C, Krause J.** 2010. Behavioural consequences of sensory plasticity in guppies. *Proceedings of the Royal Society B*, 277:1395-1401.
- Coppens C, Boer S, Koolhaas J.** 2010. Coping styles and behavioural flexibility: towards underlying mechanisms. *Proceedings of the Royal Society B*, 365:4021-4028.
- Dadda M, Zandonà E, Bisazza A.** 2007. Emotional responsiveness in fish from lines artificially selected for a high and low degree of laterality. *Physiol Behav*, 92: 764-772.
- Dahlbom J, Lagman D, Lundstedt-Enkel, Sundström F, Winberg S.** 2011. Boldness predicts social status in zebrafish (*Danio rerio*). *Plos One*, 6:8.
- Dall S, Houston A, McNamara J.** 2004. The Behavioral ecology of personality: consistent individual differences from an adaptive perspective. *Ecol Lett.* 7:734-739.

- Dingemans N J, Bouwman K M., van de Pol M, van Overveld T, Patrick S C, Matthysen E, Quinn J L.** 2012. Variation in personality and behavioural plasticity across four populations of the great tit *Parus major*. *Journal of Animal Ecology*, 81: 116-126.
- Dugatkin L, McCall M, Gregg R, Cavanaugh A, Christensen C, Unselid M.** 2005. Zebrafish (*Danio rerio*) exhibit individual differences in risk-taking behavior during predator inspection. *Ethology Ecology & Evolution*, 17: 77-81.
- Dugatkin L, McCall M, Gregg R, Cavanaugh A, Christensen C, Unselid M.** 2005. Zebrafish (*Danio rerio*) exhibit individual differences in risk-taking behavior during predator inspection. *Ethology Ecology & Evolution*, 17: 77-81.
- Engeszer R, Albericida Barbiano L, Ryan M, Parichy D.** 2007. Timing and plasticity of shoaling behaviour in the zebrafish, *Danio rerio*. *Animal Behaviour*, 74: 1269-1275.
- Fang, F.** 2000. Barred *Danio* species from the Irrawaddy River drainage (Teleostei, Cyprinidae). *Ichthyological Research*, 47: 13-26.
- Filby A, Paull G, Hickmore T, Tyler C.** 2010. Unravelling the neurophysiological basis of aggression in a fish model. *Bmc Genomics*, 11: 498.
- Frost J, Winrow-Giffen A, Ashley P, Sneddon L.** 2007. Plasticity in animal personality traits: does prior experience alter the degree of boldness?. *Proceedings of The Royal Society B*, 274: 333-339.
- Goetz F, Rosauer D, Sitar S, Goetz G, Simchick C, Roberts S, Johnson R, Murphy C, Bronte CR, MacKenzie S.** 2010. A genetic for the phenotypic differentiation between siscowet and lean lake trout (*Salvelinus namaycush*). *Molecular Ecology*, 19: 176-196.
- Gosling SD.** 2001. From mice to men: what can we learn about personality from animal research? *Psychol Bull.* 127:45-86.
- Grunwald D, Eisen J.** 2002. Headwaters of the zebrafish — emergence of a new model vertebrate. *Nature Reviews Genetics*, 3: 717–724.
- Heatwole S, Fulton C.** 2013. Behavioural flexibility in reef fishes responding to a rapidly changing wave environment. *Marine Biology*, 1-13 (Article in press).
- Huntingford F, Coyle S.** 2007. Anti-predator defences in sticklebacks: trade offs, risk sensitivity and behavioural syndromes. In *Biology of the Three-Spined Stickleback* (Ostlund-Nilsson, S., Mayer, I & Huntingford, F. A., eds), 127-156 pp.

- Johansen I, Sørensen C, Sandvik G, Nilsson G, Höglund E, Bakken M, Øverli Ø.** 2012. Neural plasticity is affected by stress and heritable variation in stress coping style. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part D*, 7: 161-171.
- Koolhaas JM, de Boer SF, Coppens CM, Buwalda B.** 2010. Neuroendocrinology of coping style: Towards understanding the biology of individual variation. *Frontier in Neuroendocrinology*, 31: 307-321.
- Koolhaas JM, Korte SM, De Boer SF, Van Der Vegt BJ, Van Reenen CG, Hopster H, De Jong IC, Ruis MAW, Blokhuis HJ.** 1999. Coping style in animals: current status in behavior and stressphysiology. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 23: 925-935.
- Korte SM, Koolhaas JM, Wingfield JC, McEwen BS.** 2005. The Darwinian concept of stress: benefits of allostasis and cost of allostatic load and the trade-offs in health and disease. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 29: 3-38.
- Kralj-Fišer S, Schneider J.** 2012. Individual behavioural consistency and plasticity in an urban spider. *Animal Behaviour*, 84: 197-204.
- Larson E, O'Malley D, Melloni R.** 2006. Aggression and vasotocin are associated with dominant-subordinate relationships in zebrafish. *Behavioural Brain Research*, 167: 94-102.
- Liu F, Wang J, Theodorakis C.** 2006. Thyrotoxicity of sodium arsenate, sodium perchlorate, and their mixture in zebrafish *Danio rerio*. *Environmental Science & Technology*, 40: 3429-3436.
- Mackenzie S, Ribas L, Pilarczyk M, Capdevila DM, Kadri S, Huntingford FA.** 2009. Screening for coping style increases the power of gene expression studies. *Plos One*, 4: 1-5.
- Martin J, Réale D.** 2008. Temperament, risk assessment and habituation to novelty in eastern chipmunks, *Tamias striatus*. *Animal Behaviour*, 75: 309-318.
- Martins C, Silva P, Conceição L, Costas B, Höglund E, Øverli Ø, Schrama J.** 2011. Linking fearfulness and coping styles in fish. *Plos One*, 6:1-8.
- Meager J, Fernö A, Skæraasen J, Järvi T, Rodewald P, Sverdrup G, Winberg S, Mayer I.** 2012. Multidimensionality of behavioural phenotypes in Atlantic cod, *Gadus morhua*. *Physiology and Behavior*, 106: 462-470.

- Moreira P, Pulman K, Pottinger T.** 2004. Extinction of a conditioned response in rainbow trout selected for high or low responsiveness to stress. *Horm Behav*, 46:450-457.
- Moretz J, Martins E, Robinson B.** 2007. Behavioral syndromes and the evolution of correlated behavior in zebrafish. *Behavioral Ecology*, 18: 556-562.
- Nüsslein-Volhard C, Dahm R.** 2002. *Zebrafish: A Practical Approach*. Oxford University Press, Oxford, 303 pp.
- Øverli Ø, Winberg S, Pottinger T.** 2005. Behavioral and neuroendocrine correlates of selection for stress responsiveness in rainbow trout- a review. *Integrative and Comparative Biology*, 45:463-474.
- Paull G, Filby A, Giddins H, Coe T, Hamilton P, Tyler C.** 2010. Dominance hierarchies in zebrafish (*Danio rerio*) and their relationship with reproductive success. *Zebrafish* 7: 109-117.
- Pressley M, Phelan III P, Witten E, Mellon M, Kim C.** 2005. Pathogenesis and inflammatory response to *Edwardsiella tarda* infection in the zebrafish. *Developmental and Comparative Immunology*, 29: 501-513.
- Pritchard VL, Lawrence J, Butlin RK, Krause J.** 2001. Shoal choice in zebrafish, *Danio rerio*: the influence of shoal size and activity. *Animal Behaviour*, 62: 1085-1088.
- Réale D, Reader SM, Sol D, McDougall PT, Dingemanse NJ.** 2007. Integrating animal temperament within ecology and evolution. *Biological Reviews*, 82: 291-318.
- Rubinstein AL.** 2003. Zebrafish from disease modeling to drug discovery. *Current Opinion in Drug Discovery Development*, 6: 218-223.
- Rubinstein AL.** 2006. Zebrafish assays for drug toxicity screening. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*, 2: 231-240.
- Ruiz-Gómez M, Huntingford F, Øverli Ø, Thörnqvist P, Höglund E.** 2011. Response to environmental change in rainbow trout selected for divergent stress coping styles. *Physiol. Behav.*, 102:317-322.
- Sih A, Bell A, Chadwick J.** 2004. Behavioral syndromes: an ecological and evolutionary overview. *Trends in Ecology and Evolution*, 19:372-378.

- Sinn D, Gosling S, Moltschaniwskyj N.** 2008. Development of shy/bold behavior in squid: contex-specific phenotypes associated with developmental plasticity. *Animal Behaviour*, 75:433-442.
- Sison M, Gerlai R.** 2010. Associative learning in zebrafish (*Danio rerio*) in the plus maze. *Behavioural Brain Research*, 207: 99-104.
- Sørensen C, Johansen I, Øverli Ø.**2013. Neural plasticity and stress coping in teleost fishes. *General and Comparative Endocrinology*, 181: 25-34.
- Spence R, Ashton R, Smith C.** 2007. Ovoposition decisions are mediated by spawning site quality in wild and domesticated zebrafish *Danio rerio*. *Behaviour* 144: 953-966.
- Spence R, Fatema M, Reichard M, Huq K, Wahab M, Ahmed Z, Smith C.** 2006. The distribution and habitat preferences of the zebrafish (*Danio rerio*) in Bangladesh. *J. Fish Biol.*, 69: 1435-1448.
- Stamps J, Groothuis T.** 2010. *The development of animal personality: relevance, concepts and perspectives. Biological Reviews*, 85: 301-325.
- Sullivan C, Kim C.** 2008. Zebrafish as a model for infectious disease and immune function . *Fish & Shellfish Immunology*, 25: 341-350.
- Thomas R, King T; Forshaw H; Marples N, Speed M, Cable J.** 2010. The response of fish to novel prey: evidence that dietary conservatism is not restricted to bird. *Behav Ecol*, 21: 669-675.
- Tong E.** 2010. Personality influences in appraisal-emotion relationships: the role of neuroticism. *J Personality*, 78: 393-417.
- Treit D.** 1989. Animal models for the study of anti-anxiety agents: a review, *neurosci. Biobehav. Rev.*, 9:203-222.
- Ulloa P, Iturra P, Niera R, Araneda C.** 2011. Zebrafish as a model organism for nutrition and growth: towards comparative studies of nutritional genomics applied to aquacultured fishes. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 21: 649–666.
- Veenema A, Cremers T, Jongsma M, Steenbergen P, De Boer S, Koolhaas J.** 2005. Differences in the effects of 5-HT (1A) receptor agonists on forced swimming behavior and brain 5-HT metabolism between low and high aggressive mice. *Psychopharmacology*, 178: 151-160.

- von Krogh K, Sørensen C, Nilsson G, Øverli Ø.** 2010. Forebrain cell proliferation, behavior, and physiology of zebrafish, *Danio rerio*, kept in enriched or barren environments. *Physiology & Behavior*, 101: 32-39
- Wilson C, Arnott G, Elwood R.** 2012. Freshwater pearl mussels show plasticity of responses to different predation risks but also show consistent individual differences in responsiveness. *Behavioural Processes*, 89: 209-303.
- Wolf M, van Doorn G, Weissing F.** 2008. Evolutionary emergence of responsive and unresponsive personalities. *Proc Nat Acad Sci USA*, 105:15825-30.
- Wright D, Nakamichi R, Krause J, Butlin R.** 2006. QTL Analysis of behavioral and morphological differentiation between wild and laboratory zebrafish (*Danio rerio*). *Behavior Genetics*, 36: 271-284.
- Wright D, Rimmer L, Pritchard V, Krause J, Butlin R.** 2003. Inter and intra-population variation in shoaling and boldness in the zebrafish (*Danio rerio*). *Naturwissenschaften*, 90: 374-37